Aus dem physiologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Wöhlisch

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VERHALTEN VON MUSKELLÄNGE UND MEMBRANPOTENTIAL (VERLETZUNGSSPANNUNG) BEI ERMÜDUNG.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfasst und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von Manfred Wander

aus Würzburg

Würzburg 1954

Aus dem physiologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Wöhlisch

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VERHALTEN VON MUSKELLÄNGE UND MEMBRANPOTENTIAL (VERLETZUNGSSPANNUNG) BEI ERMÜDUNG.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfasst und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von Manfred Wander

aus Würzburg

Würzburg 1954

Referent: Prof. Dr. Dr. E. Wöhlisch

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Tag der mündl. Prüfung:

28. Sep. 1954

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Einleitung und Fragestellung.

Zwei Erscheinungen am Muskel sind seit den Anfängen der Physiologie Gegenstand zahlreicher Experimente und theoretischer Betrachtungen: Seine Fähigkeit zur Kontraktion und Wiederverlängerung und die Muskelströme.

Der grundlegende Vorgang bei der Kontraktion ist noch immer unbekannt. Die mikroskopisch erkennbaren Einzelheiten geben keinen Hinweis für die Natur der Verkürzungsprozesse. Man hat der anisotropen Substanz die Funktion der Verkürzung zugeschrieben, in der isotropen Substanz sah man den Ort der Wiederverlängerung, und das Sarkoplasma wurde als Sitz des Tonus, als einer besonderen Aktionsform des Muskels, betrachtet. Heute schreibt man den Verkürzungsprozess der submikroskopischen Struktur zu, und die neuen Theorien führen letzten Endes alle zu der Auffassung, dass es sich um eine Faltung der Myosinkette handelt.

In älteren Anschauungen wurden die Zustandsänderungen des Myosins mit der Bildung und Beseitigung von Milchsäure verknüpft. Szent György (20) beobachtete an künstlichen Myosinfäden unter dem Einfluss von KCl Verkürzungen und nach seiner Darstellung erfolgt die Faltung des Fibroproteins dadurch, dass im Moment des Reizes vorher gebundenes Kalium frei und ionisiert wird. Andere Autoren fanden, dass Myosin in Kaliumsalzen viel leichter löslich ist als in Natriumsalzen gleicher Konzentration und sehen daher in der im Muskelzellinnern herrschenden hohen Kaliumionenkonzentration den Zweck, den labilen Eiweisskörper im Solzustand zu halten. Bei der Reizung tauscht die Faser einen Anteil ihres Kaliums gegen extrazelluläres Natrium aus, hierbei geht das Myosin in den reversiblen Gelzustand über. In der Erholungsphase laufen die entgegengerichteten Vorgänge ab.

Die Deutungsversuche Hermanns (Alterationshypothese) und Du Bois Reymonds (Molekulartheorie) zur Erklärung der Muskelströme wurden aufgegeben, als durch die Untersuchungen Nernsts, Ostwalds und Cremers die Phasengrenzkräfte bekannt wurden.

Unter Zugrundelegung der Phasengrenzkräfte entstanden die beiden modernen Theorien der bioelektrischen Potentiale: Die eine (Beutner u.a.) nimmt eine diphasische Flüssigkeitskette mit ölartiger Zwischenphase, die als auswählendes Ionenlösungsmittel wirkt, an (diphasische Verteilungspotentiale), die andere ist die Membrantheorie, die zum ersten Male von Bernstein (1) in brauchbarer Form aufgestellt wurde.

Das Sarkolemm umgibt als zähe Membran die ganze Muskelfaser, aufgebaut ist es vermutlich aus einem Mosaik von Proteinen und Lipoiden. Diesen Zellhäuten schreibt die Membrantheorie semipermeable Eigenschaften zu, womit sie entscheidend werden für den Ein- und Austritt von Stoffen; daneben spielt die Annahme einer allgemeinen Permeabilitätserhöhung bei Organtätigkeit eine besondere Rolle.
Wie für die Zustandsänderungen des Myosins, d.h. für die mechanischen Vorgänge, sind die Konzentrationsverhältnisse der Kaliumionen für die bioelektrischen Erscheinungen von grosser Bedeutung. Gegenüber den stark hydratisierten Natriumionen durchdringen die Kaliumionen leicht die Membran. Die Energie für diese dem Konzentrationsgefälle entgegengerichtete Ionenbewegung wird Stoffwechselvorgängen entnommen. Im Zellinnern herrscht somit eine hohe Kaliumionenkonzentration, im extrazellulären Raum ist sie gering. Das entgegengesetzte Konzentrationsgefälle besteht für die Natriumionen. Auf der erheblich verschiedenen Wanderungsgeschwindigkeit innerhalb der Membransubstanz mit den dadurch auftretenden Ungleichgewichten der extra- und intrazellulären Ionenverteilung basieren die elektromotorischen Potentiale.
Zahlreiche Beobachtungen sprechen dafür, dass die Erregung von Permeabilitätssteigerung begleitet wird. So erfolgt beim Ablauf einer Erregungswelle ein Ausgleich der Konzentrationsdifferenzen, der damit bedingte Potentialabfall kommt in der negativen Schwankung zum Ausdruck.
Schon frühzeitig suchte man zwischen den elektrischen und mechanischen Vorgängen Beziehungen aufzufinden und zwar in zweierlei Hinsicht: Laufen beide Erscheinungen einander parallel und sind die Ströme für den Kontraktions- und Erschlaffungsprozess von funktioneller Bedeutung oder nur eine unvermeidliche, überflüssige Energievergeudung?
Bei Dehnung eines ruhenden Muskels beobachtete Du Bois Reymond (17) eine Abnahme des Demarkationsstromes. Solche Deformationsströme ohne Latenz und von der Dauer der passiven Verformung hat auch Meissner (10) gefunden, er beschreibt, im Gegensatz zu Bois Reymond, eine negative Schwankung des Muskelstromes, wenn er die bei einer Kontraktion auftretende Formänderung des M. gastrognemius passiv nachahmte. Holmgreen (10) nahm als Ursache dieser elektrischen Erscheinungen die bei der Verformung auftretende Reibung an. Bei seinen Versuchen über die Existenz eines Ruhestromes bemerkte Szabuniewicz (19), dass ein unverletzter, ruhender Muskel einen aussteigenden Strom liefert, während beim Ausstrecken ein aufsteigender Strom erscheint, dem eine EMK von ungefähr 1 mV zugehört. Szabuniewicz nennt den Strom

aussteigend, wenn das distale Ende des Muskels ein höheres Potential als das proximale besitzt.
Neue Untersuchungen über die Dehnungspotentiale wurden von Rothschuh (13) ausgeführt. Bei partieller Dehnung eines M. sartorius beobachtete er, dass der gedehnte Muskelteil sich stets positiv zum ungedehnten Teil verhält, wobei wachsende Dehnungsgrade von parallel ansteigender Positivierung begleitet werden. Die gemessenen Werte liegen zwischen 10 und 15 mV. Auch am Herzstreifenpräparat fand er Positivierung des gedehnten Anteiles. Dagegen zeigt sich, dass bei einem ganzen Herzen ein gedehnter Abschnitt eine negative Aufladung erhält. Die Dehnung der rechten Kammer wurde am Kaninchenherzen in situ durch Abklemmen der A. pulmonalis erzielt. Auch ein durch Paraffinum liquidum gedehnter Abschnitt des Froschherzens zeigt die Negativierung. Die Erklärung dieses Verhaltens erfolgt nach den Gesichtspunkten der Membrantheorie: Längsdehnung der Faser führt zur Verkleinerung der Poren und damit zur Steigerung der semipermeablen Membraneigenschaften. Bei allseitiger Ausdehnung der Muskelfaser, wie sie bei den Versuchen am ganzen Herzen auftritt, wird das Ionensieb vergröbert und damit ein entsprechender Ausgleich der Konzentrationsgefälle erfolgen.
In der Literatur wurde bereits wiederholt darauf hingewiesen, dass für die Einzelzuckung, also bei aktiver Längenänderung, Aktionsstromkurve und Zuckungskurve ähnlich verlaufen. Auf Grund experimenteller Beobachtungen ist Lee (10) der Auffassung, dass das Elektrogramm alle Eigentümlichkeiten der Zuckungskurve widerspiegelt. Einen engen Zusammenhang zwischen dem elektrischen Verhalten des Muskels und den Formveränderungen bei der Kontraktion fand auch Korànyi (10), als er mikroskopisch das Verhalten der anisotropen Substanz bei der Einzelzuckung beobachtete. Nach seinen graphischen Darstellungen beginnen die elektromotorischen Veränderungen und die Verkürzung gleichzeitig. Auch im weiteren Verlauf stimmen beide Kurven der Form nach fast völlig überein.
Auch für die Zeitlupenkontraktionen, die Kontrakturen, ist durch zahlreiche Versuche das Parallelgehen von Verkürzung und Depolarisation bewiesen. Szabuniewicz (19) fand nach Anschneiden eines Muskels elektromotorischen Veränderungen ähnlich verlaufende Verkürzungskurven (Polarisationskontrakturen). Rothschuh (12) veröffentlichte die Beobachtung, dass ein durch Querschnitt verletzter Muskel sich in den dem Querschnitt benachbarten Teilen allmählich entlädt und dabei in der gleichen Region eine Kontraktur in Erscheinung

tritt. Eine mit der Verkürzung annähernd parallel gehende Membranentladung beobachtete Fleckenstein (5) bei Kontrakturen, die durch die verschiedenen Kontrakturgifte verursacht werden. Mikrochemische Analysen, die den der Depolarisation zugrundeliegenden Prozess, die Ionenverschiebung, erfassbar machen, zeigen, dass Kontraktur und Kaliumabgabe zum selben Zeitpunkt beginnen und dass für zunehmende Verkürzungsgrade wachsende extrazelluläre Kaliummengen nachweisbar werden.
Unter der Einwirkung von Curare, Novocain und Atropin unterbleibt jedoch Verkürzung, Kaliumaustritt und Membranentladung.
Die Ionenbewegung kann auch auf elektrischem Wege bei Gleichstromdurchströmung ausgelöst werden. Dabei treten die Kaliumionen im Kathodengebiet in der Stromrichtung nach aussen und es entsteht eine auf den Bezirk der Kathode sich erstreckende Kontraktur, der Kathodenwulst. Ebenso wird unter der Kathode eine Veratrinkontraktur verstärkt, während die Anode ein Nachlassen der Kontraktur bewirkt.
Berücksichtigt man die Gleichstromwirkung, also die Wirkung der Ionenbewegung, auf die Motorik, so kann man die eingangs gestellte Frage nach einem funktionellen Zusammenhang der elektrischen und mechanischen Erscheinungen bejahen, liegen doch beiden die Vorgänge an der Membran zugrunde. Fleckenstein (4) kommt auf Grund von Versuchen und Berechnungen zu dem Schluss, dass die hohen Konzentrationsgefälle der Kalium- und Natriumionen den primären Energiespeicher für die Muskelkontraktion darstellen und dass die Entladung dieses osmotischen Systems die Kontraktionsarbeit deckt. Der Kationenaustausch wird durch erregende Reize ausgelöst und geht mit der Erscheinung des Aktionsstromes einher. Es ist der früheste Vorgang, aus dem die Kontraktionsenergie gewonnen werden kann. Die Erschlaffung der Faser erfolgt bei Wiederherstellung der Ungleichgewichte unter Zuhilfenahme des Muskelstoffwechsels.
Diese Theorie ist nicht unbestritten geblieben. Die Widersprüche (besonders durch Weber, Tübingen) auf dem Physiologenkongress 1951 erfolgten vor allem deshalb, weil die Fleckensteinsche Theorie bei heute noch recht wenig gesicherten Kenntnissen über die Grösse des Kalium- und Natriumaustausches an der Membran den Beweis zu führen sucht, dass die primäre Energiequelle für die Muskelkontraktion in osmotischen Vorgängen zu suchen ist. Die Mehrzahl der Physiologen nimmt an, dass vor allem aus Phosphorylierungsprozessen die Kontraktionsenergie gewonnen wird.
Angesichts der vielfältigen Beobachtungen über einen Zusammenhang

von mechanischen und elektrischen Erscheinungen am Skelettmuskel erschien es berechtigt die Frage für die physiologischen Grenzzustände der Muskeltätigkeit bei Ermüdung und Totenstarre zu untersuchen. Es wurden daher die folgenden Versuchsserien ausgeführt:

1.) Versuche mit Ermüdung nach kurzdauerndem Tetanus.
2.) Versuche mit Ermüdung nach längeren Serien von Einzelkontraktionen
3.) Versuche zur Totenstarre.

Experimentelle Befunde.

Serie 1:
Versuche mit Ermüdung nach kurzdauerndem Tetanus.

a) M e t h o d i k

Die Versuche wurden Mitte bis Ende Februar 1951 an Mm. sartorii von Kaltblütern (Ranae esculentae) ausgeführt. Nach Dekapitieren des Tieres wurden die Muskellängen in situ bestimmt und beide Sartorien mit ihrem Ursprung, der Symphyse, herauspräpariert. Zur Messung des Ausgangspotentials wurde der eine Muskel sofort im beckennahen Drittel durchtrennt und die Verletzungsspannung mit unpolarisierbaren Zink-Zinksulfatelektroden zwischen unverletztem Knieende und Querschnitt abgegriffen. Der Parallelmuskel gelangte in den Versuch. Die Symphyse wurde an einer Knochenklemme befestigt und das freie Knieende mit einem Hebel verbunden. Dieser zeichnete die Längenänderungen auf einem langsam laufenden Russkymographion auf. Zur Reizung wurde ein Kondensatorreizgerät verwendet, nach vollständigem Tetanus von 1 Min. Dauer die Reizung beendet und der Muskel im oberen Drittel auf die Hälfte seiner Breite eingeschnitten. Die Wollfäden der Elektroden wurden am Knieende und Einschnitt angelegt und das Längs-Querschnittspotential nach dem Kompensationsverfahren (11) gemessen. In die Messanordnung war ein Lichtmarken-mV-Meter als Nullinstrument eingeschaltet. Die Bestimmung des Verletzungspotentials erfolgte, während der Muskel seine Wiederverlängerung am Kymographion aufzeichnete, von der 2. bis 15. Minute. Zu diesem Zeitpunkt hatte die Kurve wieder horizontalen Verlauf angenommen.

b) E r g e b n i s s e

Die Serie bestand aus 30 Versuchen. Zur Auswertung wurden an der Kymographionkurve unter Beachtung der Hebelarmverhältnisse die Grade der Muskelverkürzung abgemessen. Die Potentialwerte wurden an der

Spannungsteilerschiene abgelesen.
In Abb. 1 sind die Ergebnisse aus 8 Versuchen im Koordinatensystem graphisch dargestellt. Auf der Abscisse ist die Zeit in Minuten, auf den Ordinaten Verletzungspotentiale (mV) und wirkliche Muskellängen (mm) abgetragen. Die Zahlen an den Kurven bezeichnen die Versuchsnummern.
Die Kurven geben das Verhalten von Muskellänge und Membranpotential während des Ausgleichs des tetanischen Verkürzungsrückstandes wieder: Mit der Wiederverlängerung des Muskels erfolgt die Repolarisation an den Fasergrenzflächen.

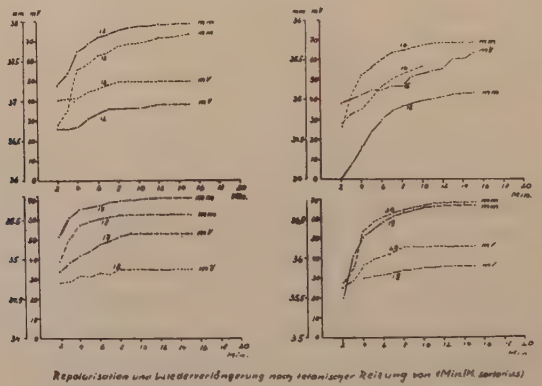

Abb. 1

Für das Ende der Reizung müssen wesentlich niedrigere Potentiale angenommen werden, als die Werte der 2. Minute (im Mittel 34 mV) anzeigen. Zur Vorbereitung der Potentialmessung (Setzen der Verletzung, Anlegen der Elektroden, Bedienen der Messvorrichtung) wurde ungefähr eine Minute benötigt, während welcher der Muskel sich sehr schnell verlängerte. (Dennoch konnte die Verletzung nicht schon vor der Reizung gesetzt werden, weil durch den Einschnitt geschwächte Muskeln sich bei tetanischer Reizung nur wenige Sekunden kontrahieren, dann rasch erschlaffen und auf weitere Reizung nicht mehr reagieren). Da auch innerhalb der registrierten Zeitdauer beide Kurven zu Beginn den steilsten Verlauf zeigen, darf vermutet werden, dass bei der ersten Messung das Membranpotential bereits eine starke Regeneration erfahren hatte.

Mit der Wiederaufladung der Membran, die unter Zuhilfenahme des Stoffwechsels erfolgt, erlangt der Muskel die Fähigkeit zu aktiver Wiederverlängerung. In der 15. Minute waren die Ausgangswerte noch nicht erreicht.

Serie 2:
Versuche mit Ermüdung nach längeren Serien von Einzelkontraktionen.
a) M e t h o d i k
Es wurde wiederum der M.sartorius verwendet, der durch den Parallelverlauf seiner Fasern die günstigsten Verhältnisse für die Messungen der Muskelpotentiale bietet.
Die Tiere wurden dekapitiert, beide Muskeln vom Knieende ausgehend beckenwärts freipräpariert und mit der Symphyse herausgenommen. Nach Halbieren der Symphyse konnten beide Muskeln für die Versuche verwendet werden.
Am Muskelstativ wurde mit einer Knochenklemme die Symphyse fixiert. Das untere Muskelende war an einem leichten Schreibhebel, der den Muskel nur wenig belastete, befestigt. Es musste darauf geachtet werden, dass die schreibende Spitze nur ganz schwach am Russpapier anlag.
Zur Messung des Anfangspotentials wurde der Muskel vor Beginn der Reizung nahe dem Beckenende angeschnitten. Die Spannung wurde zwischen Einschnitt und unverletztem Knieende mit Zink-Zinksulfatelektroden abgegriffen und von dem Brush-Oscillographen (Tintenschreiber) registriert. Um Störungen durch Wechselströme zu vermeiden, war die Anordnung in einem abgeerdeten Kupferdrahtkäfig untergebracht.
Der Muskel wurde 7 Minuten lang mit einer Serie von Einzelstromstössen, die er mit Einzelzuckungen beantwortete, gereizt. Die Reizfrequenz betrug 23 pro Minute. Während der Kontraktionen blieben die Wollfäden der Elektroden an den Abgriffstellen liegen. Für den Abgriff vom unteren Muskelende wurde ein Faden von genügender Länge verwendet, der den starken Bewegungen folgen konnte.
Bei der Aufzeichnung des Membranpotentials, die von Minute zu Minute erfolgte, musste die Reizung für kurze Zeit unterbrochen werden, um den Einbruch der Reizspannung (2 V) in den Oscillographen zu verhüten. Von der 7. bis 9. Minute, während des Ausgleichs des Verkürzungsrückstandes, wurde die Verletzungsspannung alle 5 Sekunden gemessen. In dieser Zeit hatte sich die Kymographionkurve wieder zu horizontalem Verlauf gesenkt. Die Serie umfasst 20 Versuche.

b) E r g e b n i s s e

Die Abb. 2 zeigt für einen der Versuche die Registrierung am Kymographion und die Aufzeichnung der Verletzungspotentiale durch den Brush-Oscillographen.

Am Mechanogramm soll das Verhalten der Fusspunktlinie dargestellt werden. Sie steigt bei Beginn der Reizung relativ steil an und nähert sich für die weiteren Einzelzuckungen allmählich dem Horizontalverlauf. An der Abnahme der Hubhöhen erkennt man ebenfalls die Ermüdung des Muskels. Ähnlich fällt nach Beendigung der Reizung die Kurve zunächst schnell ab und erreicht dann bei flacherem Verlauf innerhalb der Versuchszeit nicht mehr die Nullinie. Die Kurve soll auch zeigen, dass der Muskel Einzelzuckungen ausführte, Ursache der Fusspunkterhöhung also die Ermüdung war. Es handelt sich keineswegs um einen unvollständigen Tetanus, wobei durch zeitliche Bedingungen, eben die hohe Reizfrequenz, ein Absinken der Zuckungskurve verhindert wird.

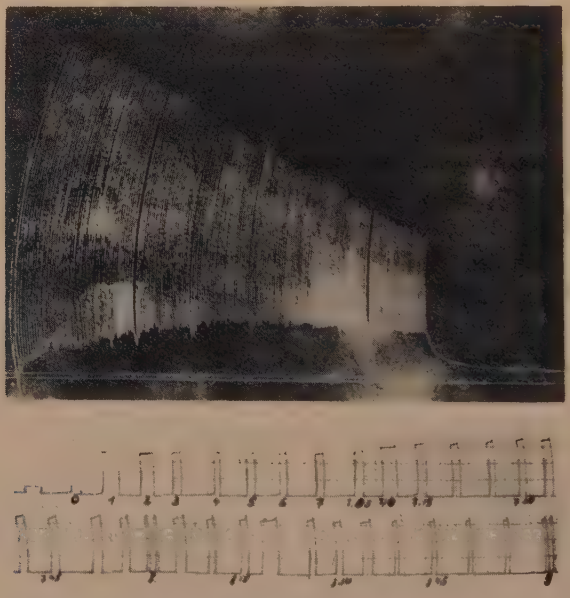

Abb. 2
Aufzeichnung der Muskelzuckungen bei rhythmischer Reizung eines M.sartorius. Registrierung des Membranpotentials mit dem Brush-Oscillographen.

Ein der Muskellänge völlig entsprechendes Verhalten der Membranladung wird an den Ausschlägen des Elektrogramms dargestellt. Am Anfang der Reihe steht die Eichzacke: Einem Federausschlag von 2 mm entsprechen 10 mV. Die Höhe der Ausschläge nimmt für die ersten Messungen rasch ab, von der 5. Minute an bleiben die Werte konstant. Es ist also die Fusspunkterhöhung durch das Elektrogramm nachgezeichnet.

Der raschen Wiederverlängerung sofort nach Beendigung der Reizung entspricht eine anfänglich starke Repolarisation. Daran schliesst sich ein Zeitabschnitt mit langsamerem Verlauf der Wiederaufladung an.

Die Werte von Muskellänge und Verletzungspotential wurden in Tabellen nebeneinander gestellt und für die einzelnen Versuche graphische Darstellungen gemacht. Noch anschaulicher zeigen die Mittelwerte aus der Versuchsreihe mit den zugehörigen Kurven (Abb. 3) die engen Beziehungen zwischen Membranpotential und Muskellänge.

In Abb. 3 sind die absoluten Grössen von Länge und Spannung wiedergegeben. Die Depolarisation wird vom Anstieg der Fusspunktlinie begleitet, mit der starken Repolarisation am Beginn der Erholung nimmt auch die Muskellänge schnell zu.

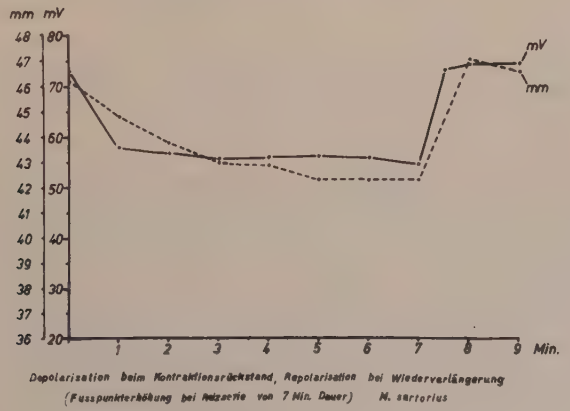

Abb. 3

In jedem der Koordinatensysteme der Abb. 4 ist für einen Versuch Länge und Potential in Prozenten, bezogen auf die Ausgangswerte, wiedergegeben. Die Werte für die vierte, fünfte und sechste Minute wurden nicht errechnet, weil nach Abb. 3 in diesem Zeitabschnitt

Potential und Länge annähernd unverändert bleiben.

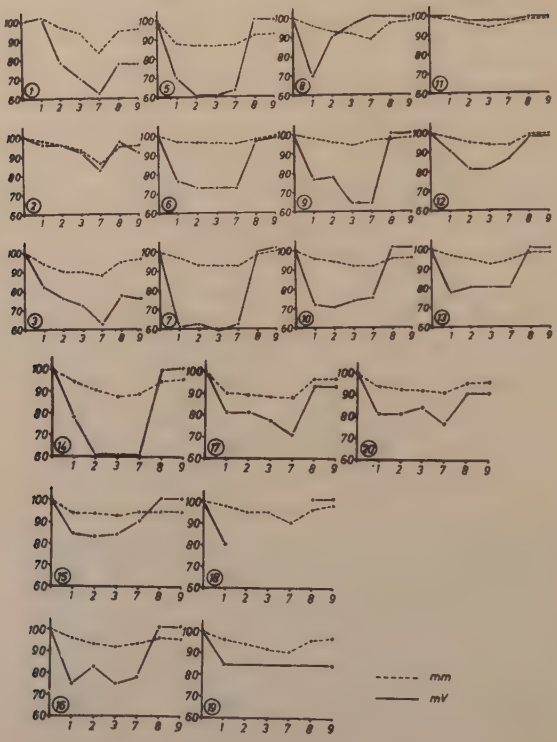

Abb. 4
Darstellung der Beziehungen zwischen Muskellänge und Membranpotential während und nach rhythmischer Reizung des Froschsartorius. Reizdauer 7 Minuten. Muskellänge (gestrichelte Kurve) und Membranpotential (ausgezogen) sind in Prozent der Ausgangswerte dargestellt. Abscisse; Zeit in Minuten.

Der Verlauf der gestrichelten Kurven, die das Verhalten der Muskellängen zeigen, ist in allen Abbildungen annähernd gleich. Das Maximum der Verkürzung beträgt für alle Versuche ungefähr 10 Prozent. Dagegen ist die Grösse des Potentialabfalls und der Repolarisation in den einzelnen Versuchen schwankend. Auffallend ist, dass in einigen Versuchen (Vers. Nr. 7, 10, 14, 15, 16, 18) die Endspannung den vor der Reizung gemessenen Wert übersteigt. Mit einer Ausnahme (Vers. Nr. 19) zeigen aber die Kurven ein gemeinsames Verhalten: Depolarisation und Muskelverkürzung, Repolarisation und Wiederverlängerung sind gekoppelte Vorgänge.

Mitte Juli wurde versucht, für die Veröffentlichung noch eine Originalkurve herzustellen. Dabei zeigte sich in den vielen Versuchen, die unter Benutzung der im April verwendeten Reiz- und Registrieranordnung ausgeführt wurden, keine oder nur geringe Erhebung der Fusspunkte. Durch diese Versuche schienen die früheren

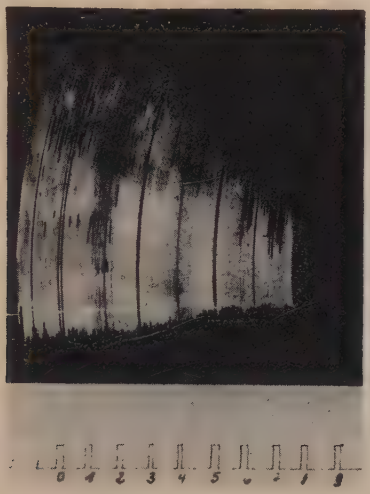

Abb. 5
Mechanogramm und Elektrogramm (Verletzungsspannung) eines Froschsartorius während und nach rhythmischer Reizung. (Kontrollversuch)

Ergebnisse widerlegt zu werden. Sie führten aber vielmehr bei Betrachtung der Aufzeichnungen des Oscillographen zu ihrer Bestätigung: Bei fehlender Fusspunkterhöhung bleibt das Potential fast völlig konstant. (Abb. 5)
Von der Jahreszeit abhängiges, verschiedenartiges Verhalten zeigt der Froschmuskel ja auch bei Versuchen anderer Art.

Serie 3:
Versuche zur Totenstarre.
a) M e t h o d i k
Die Versuche über das Verhalten des Muskelpotentials im Ablauf der Totenstarre wurden an Ratten ausgeführt. Wir liessen die Tiere zwei Stunden in handwarmem Wasser schwimmen. Durch die Ermüdung stellte sich die Starre viel schneller ein. Die Tötung erfolgte durch Schlag zwischen Auge und Ohr. Vom Rücken her wurden die grossen Bauchgefässe eröffnet. Bei den ausgebluteten Tieren konnte schnell präpariert wer-

en, ohne dass Blutungen die Arbeit störten.
on den beiden Mm. sternocleidomastoidei wurde die pars sternalis
it ihren Ursprungs- und Ansatzstellen, - Teilen des Schädelkno-
hens, des Sternums und der Clavicula - sorgfältig herausgenommen.
er eine der Muskeln diente zur Bestimmung der Ausgangswerte. Sei-
e Länge und sein Verletzungspotential wurden gemessen.
er Parallelmuskel kam unverletzt in eine feuchte Kammer, und sei-
e Verkürzung wurde durch einen Hebel registriert. Nach einer be-
timmten Zeitdauer wurde die Endlänge gemessen, der Muskel aus der
ammer genommen und nach Setzen eines Querschnittes die der Zeit
nd Länge entsprechende Endspannung mit dem Brush-Oscillographen
ufgezeichnet. So wurden für je drei Muskeln die werte für die
erste bis siebente Stunde bestimmt.
s ist erwähnenswert, dass Versuche, am Froschsartorius Totenstar-
e zu beobachten, erfolglos waren, auch nach der sicherlich star-
en Ermüdung nach Strychninkrämpfen oder durch Einbringen des Mus-
kels in CO_2 oder N_2-Atmosphäre (Milchsäuretheorie). Diese Versuche
m Froschmuskel waren zu Beginn der Arbeit ausgeführt worden, und
ngeschicktes Präparieren verursachte häufig kleine, unbemerkte Ver-
letzungen. Die von hier ausgehende Polarisationskontraktur breitete
ich über den ganzen Muskel aus und konnte so bei den ersten Versu-
chen den Eintritt einer Totenstarre vortäuschen.

b) E r g e b n i s s e

Das Verhalten von Länge und Potential wurde für die erste bis sie-
bente Stunde an je drei Muskeln geprüft. Die graphische Darstellung
der Versuchsergebnisse erfolgt in Abb. 6. Die Kurven verbinden die
für die einzelnen Zeitpunkte gefundenen Mittelwerte, die Kreuze (mm)
und Kreise (mV) bezeichnen die entsprechenden Einzelwerte.
Das Mechanogramm (gestrichelte Kurve) zeigt, dass nach sieben Stun-
den die Muskellänge um rund 1/4 des Ausgangswertes (20 mm) abgenom-
men hat. Nur ein Muskel hatte innerhalb dieser Zeit das Maximum der
Verkürzung erreicht und befand sich in der siebenten Stunde bereits
im Zustand der Starrelösung. Einige der Muskeln zeigten zu Beginn die
häufig in der Literatur beschriebene Anfangsverlängerung.
Einen wesentlich steileren Abfall zeigt das Elektrogramm. Von Aus-
gangswerten, die im Mittel bei 53 mV lagen, waren nach 7 Stunden die
Membranpotentiale auf rund 14 mV abgesunken.
Die Versuchsserie wurde abgebrochen, als sich durch Kontrollversu-
che zeigte, dass in diesem Fall keine Beziehungen zwischen Muskellän-
ge und Membranpotential bestehen: Die Kontrolltiere wurden nicht durch
Schwimmen ermüdet, und die Muskeln in eine feuchte Kammer mit O_2-Atmo-

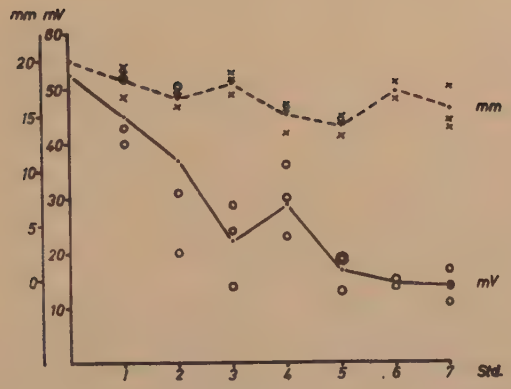

Abb. 6
Muskellänge und Membranpotential während der Ausbildung der Totenstarre.

sphäre gebracht. Obwohl nun keinerlei Verkürzung eintrat, sank für die entsprechenden Zeitpunkte die Spannung ebenso stark ab, wie bei den Muskeln, die sich in Totenstarre befanden.

Besprechung.

In früheren Darstellungen der Verkürzungserscheinungen (Versuchsserie 1 und 2) bei physiologischer Muskelbeanspruchung wurde vor allem untersucht, ob sie rein fibrillär oder durch tonische Mitbeteiligung des Sarkoplasmas bedingt seien.
Die erste Beobachtung über dieses Verhalten des Muskels machte Hermann; von ihm stammt auch die Bezeichnung Verkürzungsrückstand. Tiegel (21) beschreibt die Verkürzungszustände zum ersten Male als Kontraktur, die stets durch einige verstärkte und länger dauernde Reize ausgelöst wird. Während ihres Verlaufs schreibt der Kymographionhebel eine Kurve, die sich assymptotisch einer Geraden nähert, welche oberhalb und parallel der Abscisse verläuft. Auch er beobachtete die jahreszeitliche Abhängigkeit der Ergebnisse und schreibt, dass bei Eintritt des schönen Wetters in der zweiten Märzhälfte die Erscheinung immer schwächer wurde. Nach der Auffassung Hermanns (8) und anderer Autoren sind die Verkürzungszustände durch Ermüdungsstoffe bedingt. Ihre Anwesenheit verzögert die Prozesse, die mit der Erschlaffung einhergehen. Die Kontraktur dauert so lange an, bis diese Substanzen durch Stoffwechselvorgänge in unwirksame Formen überführt sind.

Bei höherer Temperatur erfolgt ihre beschleunigte Umwandlung. Daher ist die Kontraktur bei Winterfröschen besonders leicht zu beobachten. Wenn der Stoffwechsel durch Ermüdung abgeschwächt ist, wird die Kontraktur auch durch schwache und kurzdauernde Reize auslösbar, und sie tritt dann auch bei indirekter Reizung auf. Tiegel (14) ist aber der Meinung, dass die Kontraktur mit Ermüdung nichts zu tun hat: Zwischen ihrem Auftreten am isolierten und am durchbluteten Muskel fand er keinen Unterschied.
Über elektrische Begleiterscheinungen und deren Charakter findet man widersprechende Angaben.
Schäffer (14) zeichnete während des Verkürzungsrückstandes Muskelaktionsströme in einer Frequenz von 70 bis 80 pro Sekunde mit dem Saitengalvanometer auf. Das fällt mit Beobachtungen Beritoffs (2) nicht zusammen, der mit demselben Instrument trotz der höchsten Empfindlichkeit keinerlei elektrischen Effekt registrierte, während Verzár und Peter (3) die Formänderungen bei Ermüdungskontraktur von starken Potentialschwankungen begleitet sahen.
Nach Abschluss des experimentellen Teiles der Arbeit fand ich beim Literaturstudium, dass Beritoff (3) später Ergebnisse bekannt gab, die sich mit denen dieser Arbeit völlig decken. Beritoff führte die Untersuchungen aber unter anderen Gesichtspunkten aus. Er suchte festzustellen, ob diese Verkürzungsrückstände tonischen Charakter haben, wobei als typisches Kennzeichen des rein tonischen Zustandes das völlige Fehlen elektrischer Begleiterscheinungen angenommen wurde. Seine Galvanometersaite zeigte während der tetanischen Reizung neben den Aktionsströmen eine sich allmählich ausbildende Abweichung von der Nullage. Bei Reizungsschluss wanderte die Saite anfangs schnell, dann in flacherem Verlauf der Ruhelage zu. Beritoff bezeichnete diesen völlig oscillationsfreien, mit dem Verkürzungsrückstand einhergehenden Strom als Kontrakturstrom.
Auch für die Versuche der zweiten Serie liegen bestätigende Ergebnisse von Verzár und Peter (22) vor. Sie beobachteten bei rhythmischer Reizung des Muskels eine mit der Fusspunkterhöhung einhergehende Saitenwanderung; diese trat aber auch bei isometrischen Zuckungen auf.
Die in den Abbildungen der zweiten Versuchsserie dargestellte negative Schwankung des Membranpotentials wird als Ursache und Wesen der Ermüdung angesehen. Diese Annahme ist auch durch experimentelle Befunde belegt. Gulácsy (7) fand, dass die Ermüdung vorwiegend lokal im Gebiet der Reizkathode eintritt, wo durch die Stromwirkung eine

auf das Kathodengebiet beschränkte Permeabilitätssteigerung erfolgt. Die Ermüdung ist danach eine Grenzflächenerscheinung: Unter der Kathode kommt die notwendige Dichte der Membran nicht zustande, die für die Reizbarkeit erforderlichen Konzentrationsgefälle können sich nicht ausbilden. Bei Wendung der Elektroden wird die Kathode auf das zuvor von der Anode gedichtete Gebiet verlegt. Gulácsy sah die Ermüdung später auftreten, wenn er nach jedem Einzelreiz den Strom wendete. Scheminsky (15) schreibt zu diesem Wendungseffekt, dass er durch Stromwendung erneut Kontraktionen auslösen konnte, wenn zuvor der Muskel infolge Ermüdung aufgehört hatte, die Reize zu beantworten.

Bei Einwirkung isotonischer KCl-Lösung verkürzt sich ein Muskel unter Zusammenbruch seines Membranpotentials, nach Einbringen in O_2-reiche Ringerlösung löst sich die Kontraktur innerhalb weniger Minuten und die Grenzflächenspannung wächst zugleich auf den ursprünglichen Wert an. Die Wiederverlängerung des Muskels nach solchen Erregungskontrakturen konnte Fleckenstein (6) durch O_2-Entzug oder durch Gifte für den oxydativen Stoffwechsel unterdrücken. Mit dem Verlust des Erschlaffungsvermögens infolge Oxydationshemmung ging auch die Fähigkeit zur Wiederaufladung der Membran verloren. Erschlaffung und die mit ihr einhergehende Repolarisation sind also vom Stoffwechsel abhängig und nach der von Fleckenstein aufgestellten Theorie ist die Wiederverlängerung des Muskels ein aktiver, von Oxydationsvorgängen ausgelöster Repolarisationsprozess. Danach kommt in der bei frequenter Muskeltätigkeit sich ausbildenden negativen Schwankung ein Nachhinken der restitutiven Stoffwechselvorgänge zum Ausdruck. Der Stoffwechsel kann die Ladungsverluste bei rasch nacheinander ablaufenden Erregungswellen nicht ausgleichen, seine ungenügende Intensität zeigt sich im Absinken der Membranladung und im Auftreten der Ermüdungskontraktur. Beide Erscheinungen bilden sich zurück, wenn nach Reizungsschluss der Stoffwechsel die während der Tätigkeit eingegangene Schuld deckt.

Weit zurück liegt die Beobachtung Schönleins (18), dass die Erholung des Muskels sich sofort durch die Abnahme der negativen Schwankung anzeigt. Dieses Verhalten des Membranpotentials ist deutlich bei den Versuchen der ersten und zweiten Serie erkennbar. Auch Fleckenstein (6) fand am nicht geschädigten Muskel nach Erregungskontrakturen die Erschlaffung von parallel gehender Repolarisation begleitet.

Hierbei ist die mit der Wiederverlängerung einhergehende Erholung

der Membranladung (elektrische Aufladung der Grenzfläche) zweifellos aktiver Natur, wie das die vorliegenden Ionenkonzentrationsverhältnisse zeigen. Die Auffassung aber die Bethe zum ersten Male aussprach und die vor allem von Fleckenstein (6) vertreten wird, dass die Wiederverlängerung selbst nicht passiv, sondern als aktive Repolarisation erfolgt, die den Muskel in einen gedehnten Zustand höherer Ordnung überführt, wird heute heftig angegriffen. Es tritt wieder die Theorie in den Vordergrund, die annimmt, dass die Erschlaffung durch passive Dehnung bewirkt wird. Zur Begründung werden Versuche an künstlichen Myosinfäden angeführt. Für diese Auffassung spricht auch eine in den Bereich dieser Arbeit gehörende Beobachtung Hermanns (8). Er fand den Verkürzungsrückstand gleich der höchsten Verkürzung, wenn er den Muskel auf Hg legte, also ohne jede Belastung beliess.

Abschliessend sei erwähnt, dass auch einige Versuche vorliegen, die ein getrenntes Verhalten von Muskellänge und Membranpotential erkennen lassen. Wie bereits beschrieben, beobachteten Verzár und Peter (22) die Depolarisation auch bei isometrischen Zuckungen und auch hier zeigte während der Ermüdungskontraktur (Spannung) die Galvanometersaite die negative Schwankung an. Du Bois Reymond (16) beobachtete, dass die Grösse der negativen Schwankung, die bei tetanischer Reizung auftritt, unabhängig davon ist, ob der Muskel sich verkürzen kann oder daran verhindert wird. Er wollte mit diesem Versuch darauf hinweisen, dass diese elektrische Erscheinung nicht nur durch Längenänderung bedingt sei.

Völlig von elektrischen Erscheinungen losgelöste mechanische Vorgänge fanden Gelfan und Bishop (9) bei leichtem Stechen einer Muskelfaser. Sie konnten bei solcher Reizung örtliche und sogar fortgeleitete Kontrakturen hervorrufen, ohne dass Aktionspotentiale oder andersartige Muskelströme nachweisbar wurden.

Höber (9) schreibt hierzu:

"Es muss angenommen werden, dass Acetylcholin oder ähnliche in der Endplatte freigesetzte Wirkstoffe sowohl die Aktionspotentiale wie die kontraktile Maschinerie erregen können und unter bestimmten Bedingungen nur Kontrakturen auszulösen im Stande sind, die ähnlich denen sind, die beim Eintauchen in Acetylcholin auftreten. Es ist also der kontraktile Mechanismus selbst weiterleitbar und kann vom Aktionspotential getrennt werden".

Die nach dem Tode eintretende Grenzflächenentladung (Serie 3) geht dem Verlauf der Totenstarre nicht parallel (Abb. 6), und die Membran entlädt sich in gleichem Ausmass, wenn in O_2-Atmosphäre die Starreverkürzung völlig unterbleibt. Für dieses Verhalten der Grenz-

flächenladung ist eine Erklärung, die mit einer der verschiedenen Totenstarretheorien übereinstimmt, schwer zu finden, schon deshalb, weil nach den Ergebnissen der Kontrollversuche Depolarisation und Totenstarre nicht notwendigerweise gekoppelt sind.
Nachdem die Blutzirkulation unterbrochen ist, verliert durch die degenerativen Veränderungen die Membran ihre semipermeablen Eigenschaften. Die Konzentrationsgefälle können nicht aufrecht erhalten werden, es erfolgt ihr Ausgleich, dem die erlahmenden Stoffwechselprozesse nicht entgegenwirken können. Dieselben degenerativen Vorgänge, vor allem die mit der Säureanhäufung einhergehenden Entmischungs- und Quellungserscheinungen, werden später bei ihrem Fortschreiten den weniger empfindlichen kontraktilen Apparat treffen und hier die Starreverkürzung auslösen.
Rothschuh (12) hat eingehend den Verlauf der Depolarisation während des Absterbens untersucht. Er führte die Versuche am Kaltblüter (Rana temporaria) aus und beobachtete am unverletzten, in feuchter Kammer aufbewahrten M.sartorius zunächst einen relativ steilen, dann flacheren Verlauf des Potentialabfalls, sodass nach 36 Stunden noch 50 Prozent der Ausgangsspannung messbar waren. Auch beim Warmblütermuskel sinkt das Potential anfangs schnell, dann wesentlich langsamer ab (Abb. 6). Die Hälfte des Membranpotentials ist aber bereits nach 2 1/2 Stunden verloren und der Skelettmuskel des Warmblüters zeigt damit eher ein Verhalten, das Rothschuh am Froschherzen beobachtete.
Rothschuh fand durch weitere Versuche am verletzten, in situ belassenen Sartorius bestätigt, dass zwischen den Entladungsvorgängen und dem Tod der Muskelzelle kein absoluter Zusammenhang besteht, wenn auch das Bestehen und der Zusammenbruch der Membranladung für Leben und Tod der Muskelfaser von grosser Bedeutung sind.

Zusammenfassung.

Es wurde untersucht, ob die Verkürzungszustände bei Muskelermüdung von parallelgehenden elektromotorischen Veränderungen begleitet sind. In Serie 3 sollte festgestellt werden, ob dem Verlauf der Totenstarre ein paralleler Ablauf des Membranzusammenbruches entspricht.

Serie 1:
Während des Ausgleiches des Verkürzungsrückstandes, der nach tetanischer Reizung von einer Minute Dauer auftrat, wurde in Zeiträumen von einer Minute das Verletzungspotential mit Zink-Zinksulfatelektroden abgegriffen und nach dem Kompensationsverfahren gemessen. Die Längenänderungen des Muskels wurden am Russkymographion aufgezeichnet. Abb. 1 zeigt den gemeinsamen Verlauf von Elektrogramm und Mechanogramm: Mit der Erschlaffung des Muskels geht die Wiederaufladung seiner Grenzflächen einher. Für die Versuche wurde der M.sartorius vom Frosch verwendet.

Serie 2:
Die Versuche wurden ebenfalls am M.sartorius ausgeführt. Der Muskel wurde rhythmisch gereizt und führte sieben Minuten lang Einzelzuckungen aus. Dabei zeigen die Aufzeichnungen auf dem Kymographion eine sich anfangs schnell, dann langsamer entwickelnde Fusspunkterhöhung. Nach Beendigung der Reizung fällt mit dem Lösen der Ermüdungskontraktur das Mechanogramm in einer nach unten konvexen Kurve ab. Das Verletzungspotential wurde mit dem Brush-Oscillographen registriert. Vor allem die Kurven der Abb. 3 zeigen, dass die Abnahme des Membranpotentials während der Muskeltätigkeit weitgehend dem Verlauf der Fusspunktlinie folgt, und dass die Wiederverlängerung von einer entsprechenden Repolarisation begleitet wird.

Serie 3:
Ratten wurden durch zweistündiges Schwimmen ermüdet,und nach Töten der Tiere wurde die pars sternalis der Mm. sternocleidomastoidei herauspräpariert. Der Muskel wurde in eine feuchte Kammer gebracht, nach einerbestimmten Stundenzahl die Starreverkürzung abgelesen und die Verletzungsspannung aufgezeichnet. Die Membranentladung erfolgte weit schneller als die Verkürzung. Wurden die Muskeln nicht ermüdeter Tiere in feuchten Kammern mit O_2-Atmosphäre aufbewahrt, so trat die Starre nicht ein. Dennoch war für entsprechende Zeitabstände das Membranpotential im gleichen Masse abgesunken wie bei starren Muskeln. Für den Fall der Totenstarre zeigt also die Depolarisation keinen der Muskelverkürzung parallelen Verlauf.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. med K.E. Rothschuh, möchte ich für die liebenswürdige Überlassung des Themas und für seine mir zu jeder Zeit geliehene Unterstützung meinen herzlichen Dank sagen.
Herzlichen Dank schulde ich auch Herrn Prof. Dr. med.Dr. phil. E. Wöhlisch für die Übernahme der Arbeit und wertvolle Anregungen bei der Ausarbeitung.

Literaturverzeichnis

1 Bernstein, I.: Elektrobiologie. Braunschweig 1912
2 Beritoff, I.S.: Pflügers Arch. 198, 590 (1923)
3 Beritoff, I.S.: Z. Biol. 84,417 (1926)
4 Fleckenstein, A.: Pflügers Arch. 250, 643 (1948)
5 Fleckenstein, A.: Naunyn-Schmiedbergs Arch. 207, 39 (1949)
6 Fleckenstein, A.: Arch.Exper.Path.u.Pharmakol. 209, 235 (1950)
7 Gulácsy, Z. v.: Pflügers Arch. 223, 407 (1930)
8 Hermann, L.: Pflügers Arch. 13, 370 (1876)
9 Höber, R.: Physikalische Chemie der Zelle u.d.Gewebe 1947 S. 479
10 Korányi, A. v.: Pflügers Arch. 53, 361 (1893)
11 Rothschuh, K.E.: Pflügers Arch. 251, 262 (1949)
12 Rothschuh, K.E.: Pflügers Arch. 252, 445 (1950)
13 Rothschuh, K.E.: Pflügers Arch. (1951)
14 Schäffer, H.: Pflügers Arch. 185, 42 (1920)
15 Scheminzky, F.: Pflügers Arch. 229, 43 (1932)
16 Schenk, Fr.: Pflügers Arch. 63, 317 (1896)
17 Schenk, F.: Pflügers Arch. 79, 352 (1900)
18 Schönlein: Arch. f. Physiol. 1886 s. 252
19 Szabuniewicz, B.: Pflügers Arch. 223, 744 (1930)
20 Szent-Györgyi: Enzymologia 9, 98 (1940)
21 Tiegel, E.: Pflügers Arch. 13, 71 (1876)
22 Verzár und Peter: Pflügers Arch. 207, 192 (1924)

Lebenslauf.

Am 22.5.1927 wurde ich als zweiter Sohn des Hauptlehrers Ludwig Wander und dessen Ehefrau Anna, geb. Zobel, in Würzburg geboren. Die Volksschule besuchte ich bis zur 4. Klasse in Oberndorf, Krs. Buchen. Als mein Vater 1938 versetzt wurde, trat ich in die Goethe-Schule, Realgymnasium, in Karlsruhe ein und schloss die Schulzeit nach Unterbrechung durch Luftwaffenhelferdienst, R.A,D., Wehrdienst und Gefangenschaft mit der Reifeprüfung im Juli 1947 ab.
Im S.S. 1948 begann ich an der Universität Würzburg das Medizinstudium und bestand im Oktober 1950 die ärztliche Vorprüfung.
Nach dem W.S. 1953/54 und im S.S. 1954 legte ich das Staatsexamen ab
Ich beabsichtige, Kinderarzt zu werden.

Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und ausser der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.
Ich versichere ehrenwörtlich, dass ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Manfred Wander

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG KOLLOPPSTEINSTR. 3